

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
13 de Noviembre de 2003 (13.11.2003)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2003/093315 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: C07K 16/30,
A61K 51/10

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/CU2003/000005

(22) Fecha de presentación internacional:
28 de Abril de 2003 (28.04.2003)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
CU2002/0086 29 de Abril de 2002 (29.04.2002) CU

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US):
CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTEC-
NOLOGÍA [CU/CU]; Ave. 31 e/ 158 y 190, Cubanacán,
Playa., 10600 Ciudad de la Habana (CU).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): GAV-
ILONDO COWLEY, Jorge, Víctor [CU/CU]; Calle G
No. 460 Apto. 11 e/ 19 y, 21 Plaza., 10400 Ciudad de La
Habana (CU). AYALA ÁVILA, Marta [CU/CU]; Calle
186, No. 3117 Apto 3D e/, 31 y 33 Cubanacán, Playa,
Ciudad de La Habana 11600. Cuba, 10600 Ciudad de
La Habana (CU). FREYRE ALMEIDA, Freya, de los
Milagros [CU/CU]; Calle 33, e/ 186 y 188 Edif. C-15,
Apto 06, Cubanacán, Playa., 11600 C. Habana (CU).
ACEVEDO CASTRO, Boris, Ernesto [CU/CU]; Calle
Segunda # 565 entre, Ayestarán y Ayuntamiento, Plaza.,
12000 Ciudad de La Habana (CU). BELL GARCÍA,
Hanssel [CU/CU]; Calle 62 #906, 2do. piso, apto 16,
entre 9 y 11. Ampliación de, Almendares, Playa., 10600
Ciudad de la Habana (CU). ROQUE NAVARRO, Lour-
des, Tatiana [CU/CU]; Calle 13 No. 4211 e/. 42 y 44,
Playa., 11300 Ciudad de la Habana (CU). GONZÁLEZ
LÓPEZ, Luis, Javier [CU/CU]; Calle 186, # 3115, e/31
y 33, piso 8, Apto C. Playa., 10600 Ciudad de la Habana
(CU). CREMATA ALVAREZ, José, Alberto [CU/CU];
[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: SPECIFIC ANTIBODY FRAGMENTS FOR THE HUMAN CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN (CEA)

(54) Título: FRAGMENTOS DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS PARA EL ANTÍGENO CARCINOEMBRIÓNARIO
HUMANO (CEA)

(57) Abstract: The invention relates to mono- and bivalent (diabody) single-chain Fv-type (scFv) antibody fragments which are obtained using recombinant DNA techniques from the carcinoembryonic anti-antigen (CEA) monoclonal antibody (McA) CB/ior-CEA.1. The aforementioned McA has a high affinity for the CEA and is used in the diagnosis and monitoring of colorectal tumours in humans. As with the original McA, diabody and monovalent scFv fragments exhibit high affinities for the human CEA and recognise an epitope that is dependent on carbohydrate conservation. The diabody and monovalent scFv fragments have affinity constants for the CEA of $(5.0 \pm 0.4) \times 10^9 \text{ L mol}^{-1}$ and $(2.8 \pm 0.3) \times 10^{10} \text{ L mol}^{-1}$ respectively. The two aforementioned fragments do not display cross-reactivity with normal human tissues and cells, except for the normal colonic mucosa where the CEA is occasionally present. Said fragments can be produced through expression in recombinant micro-organisms from the cloning of nucleic acid sequences that code for variable regions obtained from the hybridoma that is produced by the CB/ior-CEA.1 McA. As with the original McA, the diabody and the monovalent scFv have a capacity for their *in vivo* identification in rats of human CEA-producing cells which grow forming tumours. The monovalent scFv and diabody do not possess Fc domains and the molecular sizes of said monovalent scFv and diabody are 5 and 2.5 times, respectively, less than the rat McA. As a result, the aforementioned monovalent scFv and diabody can better penetrate tissues *in vivo* and are less immunogenic in humans.

(57) Resumen: Fragmentos de anticuerpo tipo Fv de cadena sencilla (scFv) mono y divalente (diacuerpo), obtenidos por técnicas de ADN recombinante a partir del anticuerpo monoclonal (AcM) anti-antígeno carcinoembrionario (CEA) CB/ior-CEA.1. Este AcM tiene muy alta afinidad por el CEA y se emplea en el diagnóstico y seguimiento de tumores colorectales del hombre. Como el AcM original, los fragmentos scFv monovalente y diacuerpo exhiben altas afinidades por el CEA humano y reconocen un epítipo dependiente de la conservación de carbohidratos. El fragmento scFv monovalente y diacuerpo tienen constantes de afinidad por el CEA de $(5.0 \pm 0.4) \times 10^9 \text{ L mol}^{-1}$ y $(2.8 \pm 0.3) \times 10^{10} \text{ L mol}^{-1}$, respectivamente. Estos dos fragmentos no presentan reactividad cruzada con células y tejidos humanos normales, excepto la mucosa colónica normal donde el CEA está ocasionalmente presente. Los fragmentos pueden producirse mediante la expresión en microorganismos recombinantes, a partir del clonaje de secuencias de ácidos nucleicos codificantes para regiones variables obtenidas del hibridoma que produce el AcM CB/ior-CEA.1. Al igual que el AcM original, el scFv monovalente y el diacuerpo tienen la capacidad de identificar *in vivo* en ratones a células productoras de CEA humano que crecen formando tumores. El scFv monovalente y el diacuerpo tienen un tamaño molecular 5 y 2.5 veces inferior, respectivamente, que el AcM de ratón y no poseen dominios Fc, lo que les confiere el potencial de penetrar mejor los tejidos *in vivo* y de ser menos inmunogénicos en el hombre.

WO 2003/093315 A3



Ave 31 No. 18207 e/ 182 y 184, Apto. 46, Cubanacán, Playa., 11600 Ciudad de la Habana (CU). **MONTESINO SEGUI, Raquel** [CU/CU]; Calle 184 No. 3112 e/31 y 33, Apto. 50 Cubanacán, Playa., 11600. Ciudad de la Habana (CU).

(74) **Mandatario: POVEDA MARCHECO**, Argia; Ave. 31 e/ 158 y 190, Cubanacán, Playa., 10600 Ciudad de la Habana (CU).

(81) **Estados designados (nacional):** AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) **Estados designados (regional):** patente ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— *con informe de búsqueda internacional*

(88) **Fecha de publicación del informe de búsqueda internacional:** 8 de Enero de 2004

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/CU 03/00005

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K16/30 A61K51/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SE-HO KIM ET AL.: "Characterization of Monoclonal Antibodies Against Carcinoembryonic Antigen (CEA) and Expression in E. coli" HYBRIDOMA, vol. 20, no. 4, August 2001 (2001-08), XP002251700 page 265 -page 272	1,2,5-14
Y	---	3,4
Y	HOLLIGER P. ET AL.: "'Diabodies": Small bivalent and bispecific antibody fragments" PROC. NATL. ACAD. SCI., vol. 90, July 1993 (1993-07), XP002251701 page 6444 -page 6448 -----	3,4

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☐ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 August 2003

Date of mailing of the international search report

21 10. 2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Manso, Javier

INFORME DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/CU 03/00005

A. CLASIFICACION DE LA INVENCIÓN

CIP 7 C07K16/30 A61K51/10

Según la clasificación internacional de patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BUSQUEDA

Documentación mínima consultada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

CIP 7 C07K A61K

Otra documentación consultada además de la documentación mínima en la medida en que tales documentos forman parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos, y cuando sea aplicable, términos de búsqueda utilizados)

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS PERTINENTES

Categoría*	Identificación del documento, con indicación, cuando se adecuado, de los pasajes pertinentes	N° de las reivindicaciones pertinentes
X	SE-HO KIM ET AL.: "Characterization of Monoclonal Antibodies Against Carcinoembryonic Antigen (CEA) and Expression in E. coli" HYBRIDOMA, vol. 20, num. 4, Agosto 2001 (2001-08), XP002251700 página 265 -página 272	1,2,5-14
Y	---	3,4
Y	HOLLIGER P. ET AL.: "'Diabodies": Small bivalent and bispecific antibody fragments" PROC. NATL. ACAD. SCI., vol. 90, Julio 1993 (1993-07), XP002251701 página 6444 -página 6448 -----	3,4

☐ En la continuación del Recuadro C se relacionan documentos adicionales

☐ Véase el Anexo de la familia de patentes.

* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica, no considerado como particularmente pertinente

"E" documento anterior, publicado ya sea en la fecha de presentación internacional o con posterioridad a la misma

"L" documento que puede plantear dudas sobre reivindicación(es) de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la especificada)

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a un empleo, a una exposición o a cualquier otro tipo de medio

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional, pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud, pero que se cita para comprender el principio o la teoría que constituye la base de la invención

"X" documento de particular importancia; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que implique actividad inventiva cuando se considera el documento aisladamente

"Y" documento de especial importancia; no puede considerarse que la invención reivindicada implique actividad inventiva cuando el documento esté combinado con otro u otros documentos, cuya combinación sea evidente para un experto en la materia

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes

Fecha en la que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional

19 Agosto 2003

Fecha de expedición del presente informe de búsqueda internacional

21 10. 2003

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Funcionario autorizado

Manso, Javier